CE

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
CD99, MIC2 Gene Product
Ewing's Sarcoma Marker
Clon 12E7
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Nº de catálogo IS057

Uso previsto

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

Se prevé el uso de FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD99, *MIC2* Gene Product, Ewing's Sarcoma Marker, Clon 12E7, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) en inmunohistoquímica junto con los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus. Este anticuerpo es útil para identificar glioblastomas y ependimomas del CNS, y determinados tumores de células de los islotes del páncreas, particularmente el Sarcoma de Ewing (ES) y los tumores neuroectodermales periféricos primitivos (pPNET). La interpretación clínica de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un patólogo calificado dentro del contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Sinónimos del antígeno

p30/32^{mic2}, CD99.

Resumen y explicación

El gen *MIC2* es un gen pseudoautosomal localizado en los brazos cortos de los cromosomas X e Y. Los productos del gen son glicoproteínas de peso molecular similar, designadas como p30 y p32 (3–5). Las proteínas codificadas por el gen *MIC2* son sensibles a neuraminidasa y proteasa. En los hematíes, el gen *MIC2* está regulado por el gen *XG* unido a X, lo que genera un polimorfismo cuantitativo en los niveles del producto del gen *MIC2* (6).

Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: 1) Principio del procedimiento, 2) Material necesario pero no suministrado, 3) Almacenamiento, 4) Preparación de la muestra, 5) Procedimiento de tinción, 6) Control de calidad, 7) Solución de problemas, 8) Interpretación de la tinción y 9) Limitaciones generales.

Reactivo suministrado

El anticuerpo monoclonal de ratón listo para usar se suministra en forma líquida en una solución tampón que contiene proteína estabilizante y 0,015 de mol/L NaN_3.

Clon: 12E7 Isotipo: IgG1, kappa

Inmunógeno

Células T de leucemia linfocítica aguda (1)

Especificidad

El anticuerpo reconoce los productos del gen MIC2 y se ha mostrado que tiene una reactividad similar o idéntica a la de los anticuerpos monoclonales HBA-71 y RFB-1 (2,5).

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida de sodio (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
3. Al igual que con cualquier producto de origen biológico, deberán aplicarse los procedimientos de manipulación adecuados.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución que no se utilice deberá desecharse de acuerdo con las normativas locales, provinciales y nacionales.

Almacenamiento

Almacenar a 2–8 °C. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario deberá comprobar dichas condiciones. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán analizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. En caso de observarse una coloración inesperada que no puede ser explicada por las variaciones en los procedimientos del laboratorio y se sospeche un problema con el anticuerpo, comuníquese con la asistencia técnica de Dako.

Preparación de las muestras, incluido material necesario pero no suministrado

El anticuerpo se puede utilizar para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm.

Se requiere el tratamiento previo con recuperación del epítopo inducida por calor (HIER). Se consiguen resultados óptimos al tratar los tejidos previamente con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x) (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010/K8014).

Cortes desparafinados: Se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados, fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link.

Siga el procedimiento de tratamiento previo indicado en el prospecto para EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010/K8014). Se deben aplicar los siguientes parámetros para PT Link: temperatura de precalentamiento: 65 °C; temperatura y tiempo de recuperación del epítopo: 97 °C durante 20 (±1) minutos; enfriar a 65 °C. Enjuagar los cortes con EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x) (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010) diluido a temperatura ambiente.

Cortes incluidos en parafina: Como método alternativo de preparación de una muestra, tanto el desparafinado como la recuperación del epítopo se pueden realizar en el PT Link con un procedimiento modificado. Ver instrucciones en la Guía del usuario de PT Link. Después de finalizado el procedimiento de tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.

Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de Dako Silanized Slides (nº de catálogo S3003).

Procedimiento de tinción, incluido material necesario pero no suministrado

El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software de los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus usando los siguientes protocolos.

Plantilla del protocolo: FLEXRTU2 (volumen de aplicación 200 µL) o FLEXRTU3 (volumen de aplicación 300 µL).

Autoprogram (sin contratinción): CD99 o Autoprogram (con contratinción): CD99H.

El paso Auxiliar debe configurarse como “tampón de enjuague” en sesiones de tinción con ≤10 portaobjetos. En el caso de sesiones de tinción con >10 portaobjetos, el paso Auxiliar debe configurarse como “ninguno”. De esta manera se aseguran tiempos de lavado semejantes.

Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente. Consulte el Manual del usuario para más detalles sobre el instrumento correspondiente. Si todavía no están disponibles los protocolos en el instrumento Dako Autostainer utilizado, comuníquese con el servicio técnico de Dako.

Las condiciones óptimas pueden variar según la muestra y el método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que los resultados del protocolo ajustado sigan siendo válidos confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en "Características de resultados".

Se recomienda la contratinción en hematoxilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8018). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.

Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El control positivo de tejido debe incluir timocitos corticales, y las células/estructuras deben exhibir patrones de reacción como se describe para este tejido en “Características de resultados” en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo IS750).

Interpretación de la tinción

El patrón de tinción celular es membranoso.

Características de resultados

Tejidos normales: Los productos del gen MIC2 se expresan en la membrana celular de algunos linfocitos (médula ósea, ganglios linfáticos y bazo), timocitos corticales, células granulosas del ovario, la mayoría de células de los islotes de Langerhans, células ependimales del sistema nervioso central, células de Sertoli de los testículos y, en algunos casos, células endoteliales de los vasos sanguíneos (5).

Tejidos anormales: Un estudio de 70 tumores diferentes ha mostrado que entre los tejidos neoplásicos, sólo los glioblastomas y ependimomas del CNS y ciertos tumores de células de los islotes del páncreas reaccionaron positivamente (6). Los productos del gen *MIC2* se expresan con más fuerza en la membrana celular del sarcoma de Ewing (ES)/tumores neuroectodermales periféricos primitivos (pPNET), en neoplasias estromales uterinas y en tumores estromales de los cordones sexuales. En consecuencia, la demostración de los productos del gen permite diferenciar estos tumores de otros tumores de células redondas de la infancia y la adolescencia (3,5–10).

Referencias bibliográficas

1. Levy R, et al. A human thymus-leukemia antigen defined by hybridoma monoclonal antibodies. PNAS USA 1979; 76:6552.
2. Latron F, et al. Immunochemical characterization of the human blood cell membrane glycoprotein recognized by the monoclonal antibodies 12E7. Biochem J 1987; 247:757.
3. Fellinger EJ, et al. Biochemical and genetic characterization of the HBA71 Ewing's sarcoma cell surface antigen. Cancer Res 1991; 51:336.
4. Goodfellow PN and Tippett P. A human quantitative polymorphism related to the Xg blood groups. Nature 1981; 289:404.
5. Ambros IM, et al. MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors. Cancer 1991; 67:1886.
6. Fellinger EJ, et al. Immunohistochemical analysis of Ewing's Sarcoma cell surface antigen p30/32^{mic2}. Amer J Pathol 1991; 139:317.
7. Rettig WJ, et al. Ewing's Sarcoma: new approaches to histogenesis and molecular plasticity. Lab Invest 1992; 66:133.
8. Fellinger EJ, et al. Comparison of cell surface HBA71 (p30/32^{mic2}), neuron specific enolase, and vimentin in the immunohistochemical analysis of Ewing's Sarcoma of bone. Amer J Surg Pathol 1992; 16(8):746.
9. Baker RJ, et al. Inhibin and CD99 (MIC2) expression in uterine stromal neoplasms with sex-cord-like elements,Hum Pathol 1999, 30:671–679.
10. Gordon MD, et al. CD99, keratin, and vimentin staining of sex cord-stromal tumors, normal ovary, and testis, Mod Pathol 1998, 11:769–773.

REF Número de catálogo	Limite de temperatura	IVD Producto sanitario para diagnóstico in vitro
Fabricante	LOT Código de lote	Σ Contenido suficiente para <n> ensayos
Fecha de caducidad	Consulte las instrucciones de uso	EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea

Dako North America, Inc.
6392 Via Real
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655
Fax 805 566 6688
Technical Support 800 424 0021
Customer Service 800 235 5763

EC REP
Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595

www.dako.com

PT0020/ Rev C

Edición 09/07